



TITLE:

# DNCB皮膚結合物による海狸感作実験( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

渡邊, 進

---

CITATION:

渡邊, 進. DNCB皮膚結合物による海狸感作実験. 京都大学, 1967, 医学博士

ISSUE DATE:

1967-11-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/212355>

RIGHT:

氏 名	渡 邊 進 わた なべすすむ
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 314 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	<b>DNCB皮膚結合物による海猿感作実験</b>

論文調査委員 (主 査) 教 授 太 藤 重 夫 教 授 田 部 井 和 教 授 加 藤 篤 二

### 論 文 内 容 の 要 旨

接触アレルギーの成立には、一般に Hapten である接触物質が皮膚の蛋白と結合して初めて完全抗原となり抗体の産生を促すと言われている。実験的に接触アレルギーの成立は、接触物質を皮膚に塗布した場合には容易であるが皮膚を避けて体内に入れた場合には困難であり、またたとえ成立しても程度が弱いという点から考えると接触アレルギーの発生には皮膚の成分が重要な役割りを演じていると考えざるを得ない。接触物質は通常分子量500以下の簡単な化学物質であり、これを皮膚に塗布すると皮膚の色々な成分と結合する。この場合、皮膚の成分は大きく分けて表皮および真皮である。著者は接触物質と皮膚成分との結合物により接触アレルギーが成立するか否か、成立するとすれば皮膚のどの成分がそれに関与するかを接触物質として DNCB (1-Chloro-2,4 Dinitrobenzene) を用いて知ろうとした。

実験順序として、① DNCB の定量。② DNCB の経皮吸収量の測定。③ DNCB の経皮吸収の態度(組織化学的検討)。④ DNCB と結合或いは附着した皮膚成分による海猿感作実験。A) in vivo での実験として DNCB 塗布後採取した皮膚成分(DNCB—表皮, DNCB—真皮, DNCB—全皮膚)による感作実験, B) in vitro での実験として, in vitro で操作した DNCB—表皮, DNCB—真皮, DNCB—全皮膚による感作実験, C) DNCB のみによる感作実験, D) 無処置海猿群の皮膚貼布試験を行なった。

①②③の実験は④の実験の補助実験ともいふべきもので DNCB を皮膚に塗布した場合, DNCB が皮膚に存在するか否か, 一定時間後にどれ位の DNCB が吸収されるのか, その Route はどうかといった点を確認するために行なった。

まず Janovsky 反応を応用した比色定量法を用いて, DNCB を皮膚に塗布後, 一定時間後に皮膚表面に残存する DNCB を定量し, 吸収量を求めた。その結果, 吸収量は0.1~10%の濃度では, 24時間まででは, 時間とともに増加し, 吸収率は濃度の濃い方が薄い方に比べて低い値を示した。Azo-Coupling を応用した DNCB の組織化学的染色を行なったところ, 0.5%以上の DNCB を塗布すると DNCB が染色され, 表皮細胞は一様に染まり, 毛のう上皮細胞は表皮細胞に比べて, かなり薄く染まっていたが真皮に

は発色は認められなかった。これらの所見より、DNCB は皮膚表面全面を通じて吸収され、表皮細胞と結合することが判明した。

④の実験は A) では DNCB 塗布後、3 時間後に海狸を殺し、皮表に残存する DNCB をアセトン綿で除き、表皮、真皮を Baumberger の方法で分けて、表皮、真皮成分を作り、また表皮、真皮を分けずに全皮膚成分(表皮+真皮)を作り、Adjuvant を用いずに海狸の腹腔内に皮膚との接触を避けて注射し、2 週間後に 0.1% DNCB アセトン液 0.025cc を塗布し、48 時間後に感作の有無を判定した。B) は DNCB を塗布せずに、表皮、真皮、全皮膚成分を作り、それぞれに *in vitro* で Sanger の方法により、DNCB と結合させ、遊離の DNCB を除き、A) と同様に検査した。

その結果、感作率は *in vivo* では DNCB—表皮 21.7%, DNCB—真皮 8.5%, DNCB—全皮膚 5.2%, *in vitro* では DNCB—表皮 18.1%, DNCB—真皮 10%, DNCB—全皮膚 10%, DNCB のみ 10%, 無処置群 0% であり、DNCB—表皮での感作群が他の成分での感作群に比べて高い値を示した。

### 論文審査の結果の要旨

接触アレルギーにおいては、Hapten である低分子物質と皮膚特異成分との結合物により感作が成立すると考えられているが、その実験的根拠は未だ得られていない。

著者は海狸を使用し Dinitrochlorbenzene と皮膚成分との *in vivo*, *in vitro* 結合物をアジュバントを用いずに腹腔内に注射し感作が成立するか否かを検討した。実験過程において DNCB の経皮吸収量、吸収経路、皮膚内分布を知る必要がある。Janovsky 反応を応用した DNCB 定量法を考案し、諸濃度の DNCB の経皮吸収量を時間を追って測定し、また Azo-coupling を利用して DNCB の吸収経路、皮膚内分布を組織化学的に検索し、DNCB が経表皮、経毛嚢の両面から吸収され表皮成分と結合することを認めた。

これらの成績から、*in vivo* では塗布 3 時間後に皮膚を採取し、表皮と真皮にわかし、遊離 DNCB をアセトンで除いた後ホモゲナイズした。

*in vitro* にはあらかじめ分離した表皮、真皮をホモゲナイズし、DNCB を結合させた。おのおのの結合物を海狸の腹腔内に注射し、2 週間後接触アレルギーの成立の有無を検した。感作率は *in vivo* では DNCB—21.7%, DNCB—真皮 8.5%, *in vitro* では DNCB—表皮 18.1%, DNCB—真皮 10% を示し、接触アレルギー成立における表皮成分の干与を示唆する成績を得た。

本論文は学問的に有益であって医学博士の学位論文として価値あるものと認定する。